

Referenc 2

《山东医药工业》2002年第二十一卷第6期

23

体。目前发现主动外排机制在耐药性产生机制中的作用远远超出人们过去的认识。学者们已注意强调主动外排机制中的重要地位,因为外排泵系统几乎广泛存在。例如主动外排泵不仅介导了众多革兰阴性细菌与革兰阳性菌对多类抗菌药物的耐药性,而且也参与着真菌的多重耐药性。哺乳类细胞如癌细胞的多种耐药性(MDR)也直接与主动外排泵有关,典型的MDR泵为P-糖蛋白。再者主动外排为细菌对多类重金属离子如砷、镉、铜、锌等产生耐受性的主要机制。

铜绿假单胞菌外膜通透性低,是该菌对不同类别的抗生素呈现出固有耐药性的重要原因。但是,主动外排系统的发现揭示了它是铜绿假单胞菌有耐药性或获得性多重耐药性的主要原因。有人通过应用完整细胞与反膜膜泡分析了铜绿假单胞菌对四环素、氯霉素、诺氟沙星及 β -内酰胺类抗生素(青霉素和头孢曲松)的摄取或蓄积动力学以及能量抑制剂CC-CP的影响后发现即使野生敏感铜绿假单胞菌也具有主动外排泵。临床分离到的多种耐药株的外排泵功能明显增强。Poole等在研究铜绿假单胞菌对铁摄取分子机制也发现了铜绿假单胞菌的多重耐药性涉及到mexAB-oprK操纵子介导的主动外排泵。依据这些实验结果,提出了主动外排泵系统系铜绿假单胞菌固有耐药性或获得性多重耐药性形成的主要原因,而且铜绿假单胞菌具有多类外排泵系统。他们还首次指出主动外排泵参与了 β -内酰胺类抗生素耐药性的形成,并提出了主动外排泵系统的结构组成模型。

目前,至少已经发现有两种铜绿假单胞菌多重耐药性主动外排系统,分别由mexA-mexB-oprM和mexC-mexD-oprJ操纵子所介导。在野生铜绿假单胞菌,这些操纵子系统的表达与极低的外膜通透性共同决定了该菌对多种药物的固有耐药性。各种诱导因素如抗生素的应用,致使操纵子基因表达脱抑制,过量的表达明显地增强了操纵子所编码的主动泵系统,从而形成了获得性耐药性。类似于AcrAB系统,铜绿假单胞菌外排系统主要由质膜转运体(MexC、MexB),可能的外膜通道(如OprM、OprJ)及连质膜转运体与外膜通道的辅助蛋白三部分构成。最初由Poole等报道的基因oprK实验上编码着OprM而非OprK外膜蛋白,故一度定名为mexAB-OprK操纵子已经重新命名为mexAB-oprM。如同许多操纵子系统的表达在生理条件下都受到阻遏蛋白的调

节,Poole等已经鉴别出mexAB-oprM的阻遏蛋白mexR,mexR的突变会导致mexAB-oprM脱抑制及表达增强。

除上述耐药铜绿假单胞菌过量表达外膜蛋白OprM以外,Masuda又报道了一些不同于OprM的过值表达的外膜蛋白,并依据铜绿假单胞菌的耐药表型将耐药突变株分为如下三类:(1)nalB类:菌株对meropenem,cephems, β -内酰胺类和喹诺酮类药物呈现交叉耐药性,过量表达OprM;(2)nfxB类:菌株对 β -内酰胺类和头孢匹罗与cefazopran、四环素、氯霉素及喹诺酮类药物呈现交叉耐药性,过量表达OprJ;(3)nfxC类:菌株对喹诺酮类药物和碳青霉烯类耐药,降低了OprD蛋白的表达,增强了OprN。这些资料再次表明了铜绿假单胞菌具有复杂的多重耐药系统,而且同一耐药突变株可能同时存在着多重耐药系统,如一株高度多重耐药性铜绿假单胞菌临床分离株M1251。实际上各种耐药株的交叉耐药性也并非象上述分类中提到的那么确切。我们可以从耐药突变株的类型名称看出,这些耐药株最初发现于喹诺酮类药物菌株,如nal和nfx分别源于喹诺酮和诺氟沙星。介导细菌多重耐药性的主动外排系统的一大特征是其底物特异性较低,许多结构各异的药物均可作为外排泵的底物。我们最近检测了许多重金属化合物是否也是铜绿假单胞菌mexAB-oprM及其类似转运体的底物,结果显示mexAB-oprM等并不介导砷、铜、锌、锰、汞及银等重金属的耐药性。临床上,一些重金属化合物如磺胺嘧啶银作为外用药物用于治疗铜绿假单胞菌感染,结果表明由mexAB-oprM等介导的铜绿假单胞菌多重抗生素耐药株可对上述重金属化合物仍然敏感,故磺胺嘧啶银等似乎仍可用于有关多重抗生素耐药株感染的外用治疗,但却不容忽视铜绿假单胞菌也较易形成对重金属的耐药性。

参考文献(略)

中药提取方法的特点与应用

山东省立医院 仲锡钢 冯宗华 张磊

提取是从药材原料中分离有效成份的单元操作,直接关系到产品有效成份的含量,影响内在质量、临床疗效、经济效益及GMP的实施。本文就近年来中药制剂所采用的提取方法及新技术研究进展综述如

下。

中药提取的基本方法为浸渍法(常温浸渍法、温浸法、煎煮法)、渗漉法、回流法。其中水煎煮法是最常用的符合传统习惯的方法。传统的汤剂煎煮法有效成份损失较多,尤其是水不溶性成份。因此,人们在确定中药制剂的提取方法时,要针对具体处方和中药材进行实验筛选后确定,不能概用汤剂煎煮的常规方法。

煎煮法:煎煮法是用水作溶剂,将药材加热煮沸一定的时间,以提取其所含成分的一种常用方法。又称煮提法或煎提法。适用于有效成分能溶于水,且对热较稳定的药材。传统制备汤剂皆用煎煮法,同时也是制备一部分中药散剂、丸剂、冲剂、片剂、注射剂或提取某些有效成分的基本方法之一。但用水煎煮,浸提液中除有效成分外,往往杂质较多,尚有少量脂溶性成分,给精制带来不利;煎出液易霉败变质,应及时处理。由于煎煮法能提取较多的成分,符合中医传统用药习惯,故对于有效成分尚未清楚的中药或方剂进行剂型改进时,通常采取煎煮法粗提。

根据煎煮法加压与否,可分为常压煎煮法和加压煎煮法。常压煎煮法适用于一般性药材的煎煮,加压煎煮适用于药物成分在高温下不易被破坏,或在常压下不易煎透的药材。生产上常用蒸气进行加压煎煮。

浸渍法:浸渍法按提取的温度和浸渍次数可分为:冷浸渍法、热浸渍法、重浸渍法。

1. **冷浸渍法** 冷浸渍法是在室温下进行的操作,故又称常温浸渍法。此法可直接制得药酒、酊剂。若将滤液浓缩,可进一步制备流浸膏、浸膏、片剂、冲剂等。

2. **热浸渍法** 该法是将药材饮片或碎块置特制的罐中,加定量的溶剂(如白酒或稀醇),水浴或蒸汽加热,使内容物在40~60℃进行浸渍以缩短浸提时间,余同冷浸渍法操作。制备药酒时有用此法。由于浸渍温度高于室温,故浸出液冷却后有沉淀析出,应分离除去。

3. **重浸渍法:**重浸渍法即多次浸渍法,此法可减少药酒吸收浸液所引起的药物成分的损失量。

浸渍法适用于粘性药物、无组织结构的药材、新鲜及易于膨胀的药材、价格低廉的芳香性药材。不适用于贵重药材、毒性药材及高浓度的制剂。因为溶剂的用量大,且呈静止状态,溶剂的利用率较低,有效成分浸出不完全。即使采用重浸渍法,加强搅拌,或促进

溶剂循环,只能提高浸出效果,也不能直接制得高浓度的制剂。另外,浸渍法所需时间较长,不宜用水做溶剂,通常用不同浓度的乙醇或白酒,故浸渍过程应密闭,防止溶剂的挥发损失。

渗漉法:渗漉法是将药材粗粉置渗漉器内,溶剂连续地从渗漉器的上部加入,渗漉液不断地从下部流出,从而浸出药材中有效成分的一种方法。渗漉法与强制循环浸渍法的区别在于前者所用的是纯溶剂,而强制循环浸渍法只是操作开始时使用纯溶剂,而后的操作是用这部分溶剂所得到的浸出液的循环,因此不能象渗漉法那样,可最大限度地浸出药材的有效成分。渗漉法可分为单渗漉法、重渗漉法、加压渗漉法、逆流渗漉法。

(1) **单渗漉法:**其操作一般包括药材粉碎→润湿→装筒→排气→浸渍→渗漉等六个步骤。

(2) **重渗漉法:**重渗漉法是将渗漉液重复用作新药粉的溶剂,进行多次渗漉以提高浸出液浓度的方法。由于多次渗漉,则溶剂通过的粉柱长度为各次渗漉粉柱高度的总和,故能提高浸出效率。

(3) **加压渗漉法:**加压渗漉法可使溶剂及浸出液较快通过粉柱,使渗漉顺利过行,有利于有效成分的浸出,总提取液浓度大,溶剂耗量少,对于浓缩及回收溶剂等很为有利。

(4) **逆流渗漉法:**逆流渗漉法是药材与溶剂在浸出容器中,沿相反方向运动,连续而充分地进行接触提取的一种方法。

渗漉法属于动态浸出,即溶剂相对药粉流动浸出,溶剂的利用率高,有效成分浸出完全。故适用于贵重药材、毒性药材及高浓度制剂;也可用于有效成分含量较低的药材的提取。但对新鲜的易膨胀的药材、无组织结构的药材不宜选用。渗漉法不经滤过处理可直接收集渗漉液。因渗漉过程所需时间较长,不宜用水做溶剂,通常用不同浓度的乙醇或白酒,故应防止溶剂的挥发损失。

回流法:回流法是用乙醇等易挥发的有机溶剂提取药材成分,将浸出液加热蒸馏,其中挥发性溶剂馏出后又冷凝,重复流回浸出器中浸提药材,这样周而复始,直至有效成分回流提取完全的方法。

回流法可分为回流热浸法和回流冷浸法。

(1) **回流热浸法:**是将药材饮片或粗粉装入圆底烧瓶内,添加溶剂浸没药材表面,浸泡一定时间后,于瓶口上安装冷凝管,并接通冷凝水,再将烧瓶用水浴

加热,回流浸提至规定时间,将回流液滤出后,再添加新溶剂回流,合并各次回流液,用蒸馏法回收溶剂,即得浓缩液。

(2)回流冷浸法:小量药粉可用索氏提取器提取。大量生产采用循环回流冷浸装置。

回流法较渗漉法的溶剂耗用量少,因为溶剂能循环使用。但回流热浸法溶剂只能循环使用,不能不断更新,而循环回流冷浸法溶剂既可循环使用,又能不断更新,故溶剂用量最少,浸提较完全。但应注意,回流法由于连续加热,浸提液在蒸发锅中受热时间较长,故不适用于受热易破坏的药材成分的浸出。若在其装置上连接蒸馏装置,则可克服此缺点。

水蒸汽蒸馏法:水蒸汽蒸馏法分为:共水蒸馏法(即直接加热法)、通水蒸汽蒸馏法及水上蒸馏法三种。为提高馏出液的纯度或浓度,一般需进行重蒸馏,收集重蒸馏液。但蒸馏次数不宜过多,以免挥发油中某些成分氧化或分解。

水蒸汽蒸馏法适用于具有挥发性,能随水蒸汽蒸馏而不被破坏,与水不发生反应,又难溶或不溶于水的化学成分提取、分离,如挥发油的提取。

树脂法 树脂法收率高、质量好,浸出液与原生药成份的种类和相对含量完全一致,树脂法提取技术保持了原生药的特性。产品纯度高、质量稳定、成本低。树脂法具有操作简单、产品质量好,且可以再利用,因而此法是一种适合大工业生产的具有前途的提取方法。

超声提取法:超声提取法与常规煎煮法相比,无需加热,提取时间缩短,提高了药物的得率。得率随超声剂量的增大而提高,但有一极限值,可节约原药材 30%~40%。此法具有省时、节能、提取率高等优点,可以作为实验室和大生产的模拟工艺,如能推广可节约原药材 23.4%。

酶法:中药制剂中的杂质大多为淀粉、果胶、蛋白质等,可选用相应的酶予以分解除去,酶解不失为一种最大限度从植物体内提取有效成份的方法之一。酶反应较温和地将植物组织分解,可以较大幅度提高收率。在动物药材的提取中,酶法应用得更广泛。

超临界 CO₂ 萃取法:该法系用处于超临界状态下的 CO₂ 萃取而不使用有机溶剂,萃取是在气体溶剂处于超临界状态所具有的高密度、低粘度条件下萃取有效成分,然后通过降压的方法,将溶剂与溶质分开,因此具有萃取和蒸馏双重作用,操作周期短、效

率高,以及可以在低温中提取,没有溶剂残留,且可以有选择性地分离和保持全部成份,是一种有生命力的提取方法。超临界 CO₂ 萃取法可用于一些挥发油的提取,亦可用于其它有效成分的提取。

(1)利用气体溶剂处于超临界状态下具有高密度、低粘度的性质提取有效成分,然后应用降压的方法将溶解于流体中的溶质分离,起到提取与蒸馏双重作用,操作周期短,效率高。

(2)属于高压技术(通常在 7090kPa 以上),工艺技术要求高,设备投资费用较大,适用于含量低、产值高、高质量成分的提取。

(3)用二氧化碳作溶剂,工艺过程控制在接近室温条件和缺氧的提取系统中,因此,适用于“热敏性”成分的提取,可防止其氧化和降解。

旋流提取法:采用 PT-1 型组织捣碎机,搅拌速度为 8000r/min,原料不必预先加以研细。提取用水的初温为 20℃ 和 100℃,处理时间 2~30min,旋流法(8000r/min)制得的浸剂,按其提取物含量而言,可缩短提取时间,操作方便。

加压逆流提取:此法系将若干提取罐串联,溶剂与药材逆流顺序通过并保持一定的接触时间。此法提取效率高,提取液较浓,能耗可大幅度降低。与单罐提取相比可使药物提取液浓度大幅增加,溶剂和热能单耗降低。

半仿生提取法(SBE):SBE 法提取新技术的工艺条件要适合工业化生产的实际,不可能完全与人体条件相同,仅“半仿生”而已。故称“SBE 法”。例如:SBE 法是在常压下提取,与体温差别很大,胃肠道中有多种酶与细菌作用,而“SBE 法”不另加酶,因为煎煮温度下可使酶失活。又因该方法是模拟口服药物在胃肠道的转运过程,采用选定 pH 的酸性水和碱性水依次连续提取,其目的是提取含指标成分高的“活性混合物”,它与纯化学观点的“酸碱性”不是等同的。酸碱法是针对单体成分的溶解度与酸碱度有关的性质,在溶液中加入适量酸或碱,调节 pH 值至一定范围,其目的是使单位体成分溶解或析出。

半仿生提取法的适用范围:SBE 法适用于中药新药研究中,方剂药效物质的提取工艺研究;方剂组方意义的实验研究,以及中药“饮片颗粒化”的研究等范围。在学术上和实际应用均具新意。至今已对芍药止痛颗粒剂、寒痛定泡腾颗粒剂、华海乙肝颗粒剂、麻杏石甘汤、参附汤、当归苦参丸等多个方剂和多种中

药进行了“SBE法”的研究,结果皆提示:“SBE法”有可能替代“WE法(水提取法)”、“SBAE法(半仿生提取醇沉淀法)”,有可能替代“WAE法(水提取醇沉淀法)”。

以上提取新技术如酶法、超声提取法、超临界CO₂气体萃取法等主要是针对中药材中的有效部位或某些有效成份提取效率高。中药复方不是单味的简单罗列,而是依据一定的理论,有其组成原则和配伍法度,各味药物相辅相成共同使全方产生更好的疗效。中药制剂不能用“一锅煎”,对于已知疗效成分,可分别提取,大胆采用新技术,有利于质量控制确保疗效,对于其它不明疗效成份仍可采用混合提取,发挥复方优势,保留原汤剂的特色。

提取操作是制备现代中药制剂的重要环节,过去不被人们重视的活性成分如微量元素、鞣质及多糖等也被考虑其中。尽可能多地采用新方法、新工艺、新技术,无疑会提高中药制剂的提取水平和质量。

心得安的合并应用及不良反应

济南市妇幼保健院药剂科 阮宝华

心得安是治疗心律失常、心绞痛和高血压等疾病的一种常用药物,现在常与其他药物合并使用。合并应用时有的可产生协同作用,可增强疗效,有的则产生不良反应,必须谨慎使用。

1. 与硝酸酯类(硝酸甘油、硝酸戊四醇、硝酸异山梨醇)合用,具有协同作用,可增加疗效,减少副作用。目前认为对劳力型心绞痛有较好的疗效,但对血压偏低者应慎用。

2. 与硝苯吡啶合用,不仅降压效果好,而且不使心率增加,血浆肾素活性的增加也得到控制。两药联合应用,对治疗劳力型和不稳定型心绞痛,具有较好的疗效。

3. 与哌唑嗪合用,心得安可加重哌唑嗪的首剂效应,即可引起急性体位性低血压和心动过速等副作用。两药合用时应调整哌唑嗪的首次剂量,并谨慎使用。相互作用机理,可能是心得安抑制哌唑嗪的代谢所致。但若心得安与哌唑嗪、双氢氯噻嗪,三药联合使用,对治疗顽固性高血压可取得较好的疗效,而且副作用少。

4. 与利血平合用,虽有相加的降压作用,但可引

起窦性心动过缓和过度镇静作用,故应避免合用。

5. 与可乐宁合用,因有使血压反跳升高以及致死的报道,故不宜合用。反跳的原因可能是由于阻断了周围肾上腺素的 β 舒血管作用,使 α 作用占优势,从而血压升高。若已合用,停药时应先停心得安,以防血压反跳。

6. 与酚苄明合用,后者阻断血管 α 受体引起血管扩张,反射性引起心率增快的副作用可被心得安取消。其降压效果与心得安加胍苯哒嗪相似而副作用较少。对轻、中度高血压病有良好疗效。但在治疗肢端血管痉挛性疾病时,心得安可引起四肢动脉痉挛、手足厥冷等,从而病情加剧,使酚苄明疗效降低,二者应避免同用。

7. 与洋地黄合用,对左心室功能不全的病人是有益的。在治疗心绞痛方面,洋地黄可防止心得安使心功能恶化和使心室收缩期与舒张期容积增大,提高疗效。此外,心得安又能使充血性心力衰竭或洋地黄引起的心动过缓变得更严重,故必须严格掌握适应症。

8. 与替鲁卡因酰胺、苯妥英钠、利多卡因合用,均能增加抗心律失常作用,但各自剂量均应酌减。

9. 与奎尼丁合用,对房颤患者,心得安与奎尼丁合用使其容易转为窦性节律,同时也减少奎尼丁的用量而增加其安全性。心得安还可抑制窦房结,减慢传导并延长其不应期,因而可以避免单独使用奎尼丁,恢复窦性心律前由房颤变为房扑时,常出现的心室率加快现象。但二者并用时,应特别小心,密切观察,其剂量视病情而定,以防奎尼丁晕厥,特别是对心功能差的患者来说,更应慎重或禁忌,必要时或可考虑加用强心甘。

10. 与血管扩张药及噻嗪类利尿药合用。单独使用心得安降压效果为52~65%,且可使末梢阻力增加。如与血管扩张药及利尿药并用其降压疗效可提高达92%,并可减少或抵消各自的副作用。因为单独使用利尿降压药促使儿茶酚胺、血浆肾素和游离脂肪酸增多,并降低血钾浓度。而单独使用胍苯哒嗪时,除直接舒张血管平滑肌,降低外周阻力和动脉压外,尚可阻断 α -受体兴奋 β -受体。并引起心率加快和心排出量增高等副作用。心得安则可降低儿茶酚胺、血浆肾素和游离脂肪酸阻断 β -受体,并且不影响血浆容量和血小板的聚集性。另一方面,在合并使用双氢氯噻嗪后,可引起血浆极低密度脂蛋白、甘